

**Título:** “Aislamiento, identificación y tipificación molecular de cepas de *Clostridium difficile* en el complejo enterico neonatal porcino”

**Alumno/a:** COPPARI Carolina Rosa

**Director/a:** Méd. Vet. (MSc.) Fernando A. Bessone

**Codirector/a:** Méd. Vet. (M. Phil.) Angel Patitucci / Dr. Fabrisio E. Alustiza

**Fecha de defensa:** 29/03/2019

## **RESUMEN**

*Clostridium difficile* es un bacilo grampositivo, anaerobio estricto, al que se reconoce como agente causal de diferentes patologías de carácter intestinal que afectan al ser humano y animales, las más importantes de las cuales son la diarrea asociada al consumo de antibióticos y la colitis pseudomembranosa. Los principales factores de patogenicidad de *C. difficile* son las toxinas A (tcdA) y B (tcdB), secretadas por la mayoría de las cepas y codificadas en el mismo locus de patogenicidad. Éstas ejercen su acción tóxica sobre diversos tipos celulares de la mucosa intestinal, principalmente enterocitos, provocando daño en la mucosa intestinal e inflamación que deriva en diarrea, colitis o colitis pseudomembranosa. Algunas cepas presentan, además, la toxina binaria (CDT), que actúa sinérgicamente con las otras dos, como en el caso de la cepa hipervirulenta 027. Sin embargo, en el estudio de este microorganismo faltan detalles importantes para esclarecer su ciclo infeccioso, como conocer su reservorio y sus interacciones en el ecosistema intestinal. El complejo entérico neonatal porcino, es una patología multifactorial y poli-etiológica constituida por grupos de microorganismos bacterianos y agentes virales, dentro de los cuales se incluye a *Clostridium difficile*. Típicamente, *C. difficile* afecta a los lechones de 1 a 7 días de edad y se presenta con una diarrea temprana y raramente cursa con dificultad respiratoria. Las bacterias se transmiten a través de la ruta fecal-oral, y son especialmente resistentes ya que pueden formar esporas resistentes a la adversidad ambiental. A diferencia de las células vegetativas, las esporas son resistentes al ambiente ácido del estómago y pueden pasar al intestino delgado, donde la exposición a los ácidos biliares induce la germinación. El objetivo del trabajo fue aislar, identificar y tipificar molecularmente cepas de *C. difficile* (CDI) obtenidas a partir de materia fecal de lechones neonatos de granjas porcinas. Se muestrearon 120 cerdos (de 1, 2 y 3 semanas de vida). El cultivo de CDI se basó en el aislamiento utilizando un medio cromogénico y selectivo-diferencial CHROMagar™. La identificación molecular se realizó mediante PCR utilizando los primers dirigidos a los genes tcdA y tcdB para las toxinas A y B y los primers correspondiente a la toxina binaria cdtA y cdtB. Se realizó un estudio de corte transversal

evaluando estadísticamente la tasa de detección en las semanas de vida de los cerdos y si hay asociación entre la detección y presencia de diarreas. A partir de las 120 muestras tomadas de lechones se pudo aislar CDI en 74 (61, 66%) muestras, lo que indica que hay una alta circulación de la bacteria en las granjas. La mayor circulación se da en las granjas de producción intensiva de más de 2000 madres (entre 60%-80%) comparado con granjas de menos de 300 madres (43,33%). Se detectó la presencia de las tres toxinas, con una prevalencia incrementada de la toxina B, seguida de la toxina binaria. Se vio que en los aislamientos negativos para la toxina B, fueron negativos para la toxina A o la toxina Binaria. Mientras que los aislamientos positivos para las toxinas B fueron positivos al menos para la toxina A o Binaria (ambas en algunos casos). En la gran mayoría de los aislamientos positivos para las toxinas, los lechones no presentaban ningún síntoma de la presencia de CDI. Conclusión: el presente es el primer informe que compara la prevalencia de CDI en un gran número de lechones, con y sin diarrea, en Argentina. La PCR es una herramienta útil para la detección de CDI en muestras fecales en cerdos (enfermos y asintomáticos). No se identificó un vínculo claro entre el aislamiento de esta bacteria y la diarrea neonatal porcina.